



TITLE:

Nat1 promotes translation of specific proteins that induce differentiation of mouse embryonic stem cells( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Sugiyama, Hayami

---

CITATION:

Sugiyama, Hayami. Nat1 promotes translation of specific proteins that induce differentiation of mouse embryonic stem cells. 京都大学, 2017, 博士(医科学)

ISSUE DATE:

2017-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20286>

RIGHT:

許諾条件により本文は2017-12-09に公開

京都大学	博士（医科学）	氏 名	杉 山 逸 未
論文題目	<i>Nat1</i> promotes translation of specific proteins that induce differentiation of mouse embryonic stem cells ( <i>Nat1</i> はマウス胚性幹細胞の分化を誘導する特定のタンパク質の翻訳を促進する)		
(論文内容の要旨)			
<p>NAT1（別名：eIF4G2、p97、または DAP5）は、翻訳開始因子 eIF4G1 の C 末側 2/3 と相同性を持つ蛋白質であり、哺乳類細胞において恒常的に発現している。申請者の属するグループは、これまでの研究により、<i>Nat1</i> 遺伝子を欠損させたマウス ES 細胞は、通常の扁平な形態から、より未分化様のドーム状形態へと変化し、分化刺激に対して抵抗性を示すことを示した。この特徴的な表現型は、分化シグナルである ERK 及び GSK3 の阻害剤でマウス ES 細胞を処理することにより誘導される、より均一な未分化状態（ground state）と類似している。しかし <i>Nat1</i> 欠損によって ES 細胞の性質が本当に ground state へ変化しているのか、またその制御機構については明らかになっていない。そこで本研究では、<i>Nat1</i> 欠損により、マウス ES 細胞が ground state と同質の性質を有しているのか詳細に調べるとともに、ES 細胞における <i>Nat1</i> の分子制御機構を明らかにすることを目的とした。</p> <p>まず、<i>Nat1</i> 欠損 ES 細胞において、多能性関連遺伝子の発現変化と蛋白質リン酸化状態を調べたところ、ERK/GSK3 阻害剤で処理した場合と同様に、多能性関連遺伝子の発現が上昇し、また ERK1/2 のリン酸化の抑制と STAT3 のリン酸化の亢進が認められた。一方、ERK/GSK3 阻害剤で処理した場合は異なり、GSK3 のリン酸化は抑制されていなかった。これらの結果から <i>Nat1</i> 欠損 ES 細胞は、ground state と同一ではないが、類似する性質へ遷移していると考えられた。</p> <p>また NAT1 の機能を明らかにするために免疫沈降法と質量分析法を用いて、NAT1 と eIF4G1 それぞれに結合する蛋白質を同定した。NAT1 と eIF4G1 の両者は共通して、翻訳開始因子 eIF3 やリボゾーム蛋白質と結合していた。しかし、eIF4G1 とは異なり、NAT1 は、mRNA の 5'端である Cap 構造を認識する eIF4E には結合しなかった。一方で、NAT1 は、RNA 結合蛋白質である FXR や PRRC2 と強く結合していた。つまり NAT1 は、Cap 構造依存的に翻訳を開始する eIF4G1 複合体とは異なり、Cap 構造に依存しない翻訳開始に関与していると考えられた。そこで <i>Nat1</i> 欠損により翻訳量が変化している mRNA を同定するためにリボゾームプロファイリングを行い、ERK を活性化する <i>Map3k3</i> の翻訳が、<i>Nat1</i> 欠損 ES 細胞では抑制されていることが明らかになった。さらに <i>Map3k3</i> を <i>Nat1</i> 欠損 ES 細胞に強制発現させると、ERK のリン酸化活性と分化マーカーの発現が増加し、また主要な多能性関連遺伝子の発現は抑制された。</p> <p>以上のように本研究は、<i>Nat1</i> を欠損させることで、ERK/GSK3 阻害剤で処理した場合の ground state と同一ではないが、類似した状態へと遷移することを明らかとした。またその分子制御機構の一つとして、NAT1 が、eIF4G1 複合体とは異なり、Cap 非依存的な翻訳開始因子複合体を形成し、<i>Map3k3</i> の翻訳を促進していることを明らかにした。</p>			

<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>マウス ES 細胞を ERK/GSK3 阻害剤 (2i) で処理すると、より均一かつ未分化で、キメラ形成能などの分化能の高いいわゆる“ground state”へと遷移する。一方、蛋白質翻訳開始因子 <i>Nat1</i> を欠損させた ES 細胞は 2i 処理せずとも ground state に類似した形態を示す。そこで本研究は <i>Nat1</i> 欠損 ES 細胞と 2i 処理による ground state を詳細に比較すると共に、<i>Nat1</i> による ES 細胞の制御機構を明らかにすることを目的としている。</p> <p><i>Nat1</i> 欠損 ES 細胞では、2i で処理した場合と同様に多能性関連遺伝子の発現上昇、ERK1/2 のリン酸化抑制と STAT3 のリン酸化亢進が確認された。一方、2i で処理した場合と異なり GSK3 のリン酸化は抑制されなかった。これらの結果から <i>Nat1</i> 欠損 ES 細胞は ground state と同一ではないが類似する状態へ遷移していると考えられた。また <i>Nat1</i> は、Cap 構造に依存しない翻訳開始複合体を形成すること、<i>Nat1</i> 欠損 ES 細胞では ERK を活性化する <i>Map3k3</i> の翻訳が抑制されていること、<i>Map3k3</i> を強制発現させると ERK のリン酸化活性と分化マーカーの発現が増加し、また主要な多能性関連遺伝子の発現が抑制されることを確認した。</p> <p>以上の研究成果は <i>Nat1</i> による翻訳制御を介した ES 細胞における多能性制御機構の解明に貢献し、ES 細胞における翻訳制御の理解に大きく寄与する。</p> <p>したがって、本論文は博士（医科学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 2 月 28 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
--